

THESIS

MUNICH

1965

✓

**Der Nettoflux von Kaliumionen durch die
Erythrozytenmembran bei Azidose**

Heinz Hidding

Der Nettoflux von Kaliumionen durch die Erythrozytenmembran bei Azidose

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der Zahnheilkunde
verfaßt und
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Heinz Hidding
aus Schwelm

München 1965

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter:	Priv. -Doz. Dr. G. RIECKER
Mitberichterstatter:	Prof. Dr. H. SCHWIEGK
Dekan:	Prof. Dr. O. HUG

Tag der mündlichen Prüfung: 5.1.1965

IN DANKBARKEIT
MEINEN ELTERN GEWIDMET



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA40154008_0093

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
I. EINLEITUNG UND FRAGESTELLUNG	7
II. METHODIK	11
Milchsäureacidose	
a) Bestimmung der extracellulären H^+ Ionenkonzentration	11
b) Bestimmung der intracellulären Natrium- und Kalium- ionenkonzentration	11
c) Wassergehaltsbestimmung	11
Kohlensäureacidose	
a) Bestimmung der extra- und intracellulären H^+ Ionen- konzentration	12
b) Bestimmung der intracellulären Natrium- und Kalium- ionenkonzentration	12
c) Wassergehaltsbestimmung	12
III. VERSUCHSERGEBNISSE	13
IV. BESPRECHUNG DER VERSUCHSERGEBNISSE	13
V. ZUSAMMENFASSUNG	17
VI. LITERATURVERZEICHNIS	23
VII. LEBENS LAUF	27

EINLEITUNG UND FRAGESTELLUNG

Die Ionenordnung an Zellgrenzflächen gehört zu den Elementarvorgängen der Biologie. Von ihr werden ganz allgemein die lebenswichtigen Funktionen wie die der Erregung, der Kontraktilität, des Stofftransportes, der Zellosmolarität usw. entscheidend mitbestimmt. Die stationären Elektrolytkonzentrationen auf beiden Seiten einer Zellmembran werden, wie man aus zahlreichen experimentellen Untersuchungen weiss, von den physikalisch-chemischen Eigenschaften der Zellstruktur und vom energieliefernden Zellstoffwechsel im Sinne eines Fließgleichgewichtes aufrecht erhalten. Erhöhung der Membrandurchlässigkeit für Ionen, pH-Schwankungen oder Verminderung der Energiezufuhr durch Störungen im Substratstoffwechsel führen zu Veränderungen dieser Ionenordnung mit Auswirkungen auf die Leitfähigkeit von erregbaren Zellsubstraten, auf das Membranpotential, auf den Zellwassergehalt und auf die Membranpermeabilität. Wir sprechen dann von einer ionalen Verteilungsstörung.

Für klinisch-diagnostische Zwecke kann als Faustregel gelten, dass eine ionale Verteilungsstörung dann vorliegt, wenn sich Plasma- und Zellkonzentrationen eines Stoffes gegensinnig verhalten. Ein Beispiel hierfür ist die verminderte Zellkaliumkonzentration bei gleichzeitig bestehender Hyperkaliämie im Gefolge einer Niereninsuffizienz mit Azidose. Den umgekehrten Fall, nämlich ein erhöhtes Zellkalium bei Hypokaliämie haben Von Bubnoff und Riecker (1962) bei klinischen Zuständen mit Alkalose und bei experimenteller Alkalose nachweisen können.

Dagegen sind die Störungen der äusseren Stoffbilanz (Mangel oder Überschuss) in ausgeprägten Fällen durch die gleichsinnige Änderung von Zell- und Plasmakonzentration gekennzeichnet. So ist bei einem Natriummangelsyndrom in den meisten Fällen sowohl die Plasma- als auch die Zellnatriumkonzentration erniedrigt. (Übersicht bei Riecker, 1961).

Während die Pathophysiologie der klinischen Bilanzstörungen, ihre Erkennung und Therapie gut bekannt und umfassend bearbeitet sind, trifft dies für die Störungen der intra-extrazellulären Elektrolytverteilung nicht zu. Die lückenhafte Kenntnis dieses für das Verständnis der allgemeinen Biologie und speziell klinischer Prozesse so wichtige Gebiet erklärt sich aus den methodischen Schwierigkeiten, am intakten Organismus die zellulären Elektrolytkonzentrationen zu

bestimmen. So beschränken sich die Möglichkeiten, Krankheiten des Elektrolythaushaltes zu erkennen und ihren Mechanismus zu untersuchen, bisher auf Urinuntersuchungen, auf Messungen der Serumelektrolytkonzentrationen oder auf chemische Muskelanalysen bzw. Bilanzuntersuchungen, die beide mit den Ungenauigkeiten eines wechselnd grossen und schwer erfassbaren extrazellulären Verteilungsraumes belastet sind. Diese herkömmlichen Untersuchungstechniken ermöglichen entweder nur mit grober Näherung oder, wie in den meisten Fällen, keine sicheren Aussagen über Elektrolytveränderungen im Zellinnern.

Vom gesamten austauschbaren Natriumbestand des Organismus (ist gleich $3'075$ mAequ) befindet sich der grössere Anteil ($1'903$ mAequ i. gl. 62%) extrazellulär, von der gesamten austauschbaren Kaliummenge (i. gl. $3'440$ mAequ) aber nur rund 60 mAequ, also nicht mehr als 2% im Extrazellulär-
raum (Elkinton und Danowski, 1955).

Hierdurch erklärt es sich, dass unter pathologischen Bedingungen selbst grössere Kaliumverluste vorkommen können, ohne durch entsprechende Konzentrationsveränderungen im Plasma in Erscheinung zu treten.

Die Einführung der Erythrozytenanalyse als Untersuchungsmethode hat auch die zellulären Störungen einer genaueren Betrachtung zugänglich gemacht. In umfangreichen Untersuchungen fanden Riecker und Von Bubnoff eine diagnostisch verwertbare Korrelation zwischen dem Natrium-, Kalium- und Wassergehalt von Erythrozyten und demjenigen des übrigen Intrazellulär-
raumes beim Salz-mangelsyndrom, bei der Wasserintoxikation, bei allgemeiner Dehydratation, beim allgemeinen Kaliummangel, bei der Glykosidintoxikation und bei Zuständen mit metabolischer Azidose (Übersicht bei Riecker, 1961). Um differenziertere Aufschlüsse über Störungen der Ionenverteilung an Zellmembranen zu gewinnen, haben Bolte, Riecker und Röhl (1963), ein Verfahren entwickelt, das gestattet, am Menschen ohne operative Eingriffe Messungen des Membranpotentials einzelner quergestreifter Muskelzellen vorzunehmen.

Der Vorteil von Untersuchungen an roten Blutzellen besteht darin, dass beliebig oft und ohne gröbere Irritation der untersuchten Personen Messungen der Zellelektrolyte und des sie umspülenden extrazellulären Mediums vorgenommen werden können; ferner, dass diese Zellen dann unter den standardisierten Bedingungen in vitro inkubiert und bestimmten experimentellen Bedingungen unterworfen werden können. Hierdurch ist es erst möglich, die unter klinischen Bedingungen beobachteten Veränderungen in vitro hinsichtlich der zugrundeliegenden Ursachen genauer zu untersuchen.

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit dem Mechanismus der ionalen Verteilungsstörung an der Erythrozytenmembran bei Azidose. Störungen der intra-extrazellulären Elektrolytverteilung kommen in der Klinik im Gefolge renaler Erkrankungen, insbesondere wenn die Wasserstoffionenkonzentration in den Körperflüssigkeiten erhöht ist, häufig vor. So haben schon in früheren Jahren Elkinson, Singer, Barger und Clark (1955) bei der akuten respiratorischen Azidose an Hand von Bilanzmessungen eine Verminderung des zellulären Kationengehaltes im Organismus festgestellt. An nephrektomierten Hunden wiesen Giebisch, Berger und Pitts (1955) gleichfalls eine Verschiebung von Natrium und Kalium aus dem gesamten Zellraum in die Extrazellulärflüssigkeit unter dem Einfluss von Kohlensäureinhalation nach, was sie als Beteiligung der Zellbasen an der Pufferung deuteten. Ähnliche Auswirkungen konnten auch bei Verabfolgung nichtflüchtiger Säuren von Schwartz, Örning und Porter (1957) an Hunden beobachtet werden. Ferner fanden Levitt, Turner, Sweet und Pandiri (1956) bei experimenteller Azidose und Mudge und Vislocky (1948) sowie Gessler (1961) bei renaler Azidose einen verminderten Kationengehalt in der quergestreiften Muskulatur. In grösserem Umfange konnten diese Verhältnisse unter klinischen Bedingungen an der roten Blutzelle verfolgt werden, und zwar durch Nichols und Nichols (1952) bei der diabetischen Azidose und durch Gessler (1961) sowie Riecker (1963) bei Niereninsuffizienz.

Der letzte Autor fand bei 16 Patienten mit Niereninsuffizienz und Azidose eine Verminderung der mittleren Kaliumkonzentration und des intra-extrazellulären Konzentrationsgefälles. Die entsprechenden Natriumwerte verhielten sich zwar gleichsinnig, waren aber dem Grade nach viel weniger ausgeprägt und statistisch nicht vom Normalkollektiv unterscheidbar. Die Verminderung des intra-extrazellulären Konzentrationsgefälles von Kalium (K_{i-a}) ging dabei hauptsächlich auf Kosten des verminderten Zellkaliumgehaltes, da die durchschnittliche Plasmakaliumkonzentration der untersuchten Patientengruppe mit 4,7 mval/l noch im Normbereich lag.

Die geschilderten Veränderungen der zellulären Kaliumkonzentration korrelieren gut mit den mittleren Schwankungen des mittleren Zell-pH bei diesen Zuständen, letzteres war auf 7,04 gegenüber einem Normalwert von 7,27 erniedrigt. In einer weiteren Versuchsreihe von Riecker (1963) mit experimenteller Ammoniumchlorid-Azidose bei gesunden Versuchspersonen und bei Milchsäure-Azidose in Vitro führte gleichfalls die Erhöhung der Wasserstoffionenkonzentration zu einer Verminderung des Zellkaliums.

Die stationäre Zellkaliumkonzentration von roten Blutzellen ist das Resultat

eines aktiven Kaliumtransportes in die Zelle und eines passiven Kaliumabstromes in die Extrazellulärflüssigkeit. Beide Prozesse sind gleichgross, woraus die gleichbleibende Zellkalium-Konzentration resultiert. Der Austausch des intrazellulären Erythrozytenkaliums mit dem extrazellulären Kalium beträgt annähernd 2,1 mmol/Std./l Blutzellen bei 37°C. (Streeten und Solomon, 1954). Die Grösse des Kaliuminflux ist von der Aussenkonzentration abhängig, erreicht aber bei höheren extrazellulären Kaliumkonzentrationen einen asymptotischen Wert im Sinne einer Sättigungskinetik (Glynn, 1957).

Der aktive Kationen-Transport durch die Erythrozytenmembran erhält seine Energie aus dem Abbau energiereicher Phosphate (Straub, 1953). Glukosemangel, Senkung der Milieutemperatur, Vergiftung mit Natriumfluorid führen über eine verminderte Energiezufuhr zu einer Hemmung des aktiven Kationentransportes, Herzglykoside zu dem gleichen Effekt durch direkte Blockierung des in der Membran lokalisierten Transportsystems (Wilbrandt, 1937; Schatzmann, 1953). Dabei ist bemerkenswert, dass der Glykosideffekt weder die Glykolyse (Schatzmann, 1954), noch die ATP-Bildung (Whittam, 1957) affiziert.

Unter physiologischen Verhältnissen besteht in der roten Blutzelle wie in den meisten anderen Körperzellen eine im Verhältnis zur Extrazellulärflüssigkeit hohe Kalium- und niedrige Natriumkonzentration. Die intra-extrazellulären Konzentrationsdifferenzen beider Kationen werden durch den erwähnten aktiven Kationentransport unter ständiger Energiezufuhr aufrecht erhalten. Einzelheiten siehe bei Wilbrandt, 1963. Hemmung des aktiven Kationentransports durch eine der oben erwähnten Substanzen bzw. Massnahmen führt dementsprechend zu einer Verminderung dieser intra-extrazellulären Konzentrationsdifferenzen, die Zellkaliumkonzentration nimmt dann ab, der Zellnatriumgehalt nimmt zu.

In den vorliegenden Versuchen wurde der rückläufige Vorgang, nämlich die Wiederaufrichtung der intra-extrazellulären Elektrolytkonzentrationsdifferenzen während Aufwärmung vorher unterkühlter Erythrozyten gemessen. In der Wärme steigt die während der Unterkühlung verminderte Zellkaliumkonzentration wieder an, um nach Stunden einen Grenzwert zu erreichen. Bis zu diesem Zeitpunkt ist also der Kaliuminflux grösser als der Kaliumefflux. Die Differenz beider Vorgänge wird als *Nettoflux* bezeichnet. Es sollte die Frage beantwortet werden, ob eine erhöhte Wasserstoffionenkonzentration, also eine Azidose, diesen Kaliumnettoflux in der Aufwärmepériode unterkühlter Erythrozyten beeinflusst.

METHODIK

Die Untersuchungen wurden an menschlichen Erythrozyten vorgenommen. In der ersten Versuchsreihe mit zehn Versuchen wurde eine Milchsäure-Azidose *in vitro*, in der zweiten Versuchsreihe mit sechs Versuchen eine Kohlensäure-Azidose *in vitro* durchgeführt.

Milchsäure - Azidose: Es wurden ca. 100 ccm Blut aus der Cubitalvene entnommen und in einem Glas aufgefangen, das mit Calciumheparinat präpariert war. Für die Präparation des Calciumheparinats wurden 50 mg Calciumheparinat in 5 ml Aqua dest. gelöst. Mit etwa 0,5 ml dieser Lösung wurde das Gläschen benetzt und das Heparinat bei 37° Celsius antrocknen lassen.

Die Blutprobe wurde 72 Stunden im Eisschrank unterkühlt. Während dieser Zeit wurde häufig umgeschüttelt, um eine feste Sedimentation zu vermeiden. Es muss dies jedoch vorsichtig geschehen, damit die Erythrozyten nicht hämolytisch werden.

Nach Beendigung der Unterkühlung wurde das Blut auf fünf Zentrifugengläser verteilt (18 - 20 ccm Blut pro Glas). Ein Glas wurde verwendet zur sofortigen Bestimmung von Natrium und Kalium in den Erythrozyten, sowie zur Bestimmung des intrazellulären Wassergehaltes. Die restlichen vier Gläser wurden in ein thermokonstantes Wasserbad von 37° verbracht und drei Stunden mit einem Gasgemisch von 3 % CO₂/97 % O₂ durchperlt. Die Azidivisierung des Milieus wurde durch Zugabe einer 3 %igen Milchsäurelösung erreicht. Gewünscht war dabei ein Vollblut-pH von 7,10 bis 7,20. Zwei Gläser wurden als Kontrollen ohne Milchsäurezugabe unter sonst gleichen Bedingungen untersucht. Während der dreistündigen Inkubation wurde in Abständen von 30 Minuten das Vollblut-pH gemessen. Aus diesen Messungen wurde ein Mittelwert errechnet.

Am Ende des Versuches wurde das Blut sofort scharf zentrifugiert (10 Minuten bei 4'000 Umdrehungen p. Min.). Dann wurde das Plasma abpipettiert und die oberste Erythrozytenschicht verworfen. Zur Bestimmung des Wassergehaltes wurde aus der untersten Sedimentschicht ca. 1 ccm entnommen, in ein Wägegäschen eingewogen und im Trockenschrank bei 80° C bis zur Gewichtskonstanz (etwa 24 Stunden) getrocknet. Der Wassergehalt ergibt sich dabei aus der Differenz zwischen Feucht- und Trockengewicht bezogen auf das Feuchtgewicht.

Weitere 0,5 ccm des Erythrozytensedimentes wurden zur Bestimmung von Natrium und Kalium verwendet. Die Verdünnung betrug dabei 1 : 100, gemessen

wurde mit dem Flammenphotometer PF 5 der Firma Zeiss. Es wurden jeweils Doppelbestimmungen durchgeführt.

Kohlensäure - Azidose : Die Blutentnahme und Unterkühlung erfolgte wie bei der Milchsäure-Azidose. Das unterkühlte Blut wurde ebenfalls auf fünf Gläser verteilt, wovon wieder ein Glas zur sofortigen Bestimmung der Natrium-Kaliumkonzentration sowie des intrazellulären Wassergehaltes verwendet wurde. Die restlichen Gläser wurden in ein thermokonstantes Wasserbad von 37° C verbracht. Zwei Gläser (Doppelbestimmung) wurden mit einem Gasgemisch von 5 - 8 % CO₂/95 - 92 % O₂ durchperlt. Dabei stellte sich ein Vollblut-pH-Wert von 7,10 bis 7,20 ein. Die beiden anderen Gläser wurden wie oben als Kontrollwerte verwendet und mit einem Gasgemisch von 3 % CO₂/97 % O₂ durchperlt. Auch hier wurde während der Inkubation alle 30 Minuten der Vollblut-pH-Wert gemessen.

Am Ende des Versuches wurde das intra- und extrazelluläre p_H bestimmt. Wegen der Flüchtigkeit der Kohlensäure muss die Messung unter Luftabschluss erfolgen. Zu diesem Zweck wurden aus den Gläsern noch während der Durchperlung ca. 10 ccn Blut einer Spritze entnommen. Dabei ist zu beachten, dass diese Entnahme luftblasenfrei geschieht. Das Blut wird dann in ein Zentrifugengläschen unter Paraffin gespritzt und im Zentrifugenthermostat bei 37° C zehn Minuten mit 4'000 Umdrehungen p. Min. zentrifugiert. Das überstehende Plasma wurde luftblasenfrei aufgezogen und in ein Gläschen unter Paraffin zur pH-Messung gespritzt. Dann wurden die Erythrozyten ebenfalls luftblasenfrei in eine Spritze aufgezogen und mit Äther, der ebenfalls aufgezogen wurde, in der Spritze durch kräftiges Schütteln hämolysiert. Der überstehende Äther wurde abgespritzt und das Hämolysat zur pH-Messung ebenfalls in ein Gläschen unter Paraffin gebracht. Zur Messung des pH-Wertes wurde ein Kompensationspotentiometer E 187 und eine Mikrokugelelektrode der Firma Metrohm verwendet. Grundlage der Methoden siehe bei v. Bubnoff und Riecker, 1961.

Die Bestimmung der intrazellulären Natrium- und Kaliumkonzentration sowie die des Wassergehaltes erfolgte wie oben beschrieben.

Die statistische Berechnung und Sicherung der Gruppendifferenzen erfolgte nach der Methode der t-Verteilung von Fisher.

VERSUCHSERGEBNISSE

Milchsäure-Azidose: Wie aus der zusammenfassenden Tabelle 1 hervorgeht, änderte sich der Natrium-Nettoflux unter der Einwirkung der erhöhten Wasserstoffionenkonzentration praktisch nicht. Sowohl die Kontrolle wie die azidotischen Proben ergaben einen Wert von ΔNa_i um - 10,0 mval/l. Dagegen lassen die Veränderungen der zellulären Kaliumkonzentration während des Aufwärmvorganges einen deutlichen Unterschied erkennen. Im Kontrollglas ergab sich in zehn Versuchen ein Mittelwert von ΔK_i von +10,17 mval/l, in den azidotischen Gläsern von nur 6,51 mval/l. Dieser Unterschied ist statistisch signifikant und bedeutet eine Minderung des Kaliumnettoflux unter dem Einfluss einer Azidose.

Kohlensäure-Azidose: In diesem Kollektiv von sechs Untersuchungen waren die Unterschiede weit weniger ausgeprägt. Ähnlich wie bei der Milchsäure-Azidose ändert sich der Nettonatriumflux unter Azidose praktisch nicht. ΔK_i blieb auch hier in den azidotischen Proben um fast 50 % niedriger als in den Kontrollen. Die mittlere Vollblut-pH-Differenz betrug 0,26 im Vergleich zu 0,184 in dem Milchsäurekollektiv. Die Azidifizierung ist also in beiden Untersuchungsserien ähnlich stark ausgeprägt. Einzelheiten siehe Tabelle 1.

BESPRECHUNG DER VERSUCHSERGEBNISSE

Nach der rechnerischen Ableitung von Tosteson, 1955, lässt sich der Kaliumin- und efflux wie folgt formulieren:

$$e_{M_K} = e_{k_K} \cdot [K]_c$$

wobei e_{M_K} der Kaliumefflux, e_{k_K} die Geschwindigkeitskonstante des Efflux und $[K]_c$ die zelluläre Kaliumkonzentration bedeutet.

Für den Kaliuminflux (i_{M_K}) gilt die folgende Gleichung:

$$i_{M_K} = i_{aM_K} + i_{dk_K} \cdot [K]_e$$

wobei i_{dk_K} die Geschwindigkeitskonstante für den Influx, i_{aM_K} der aktive Transportflux für Kalium und $[K]_e$ die extrazelluläre Kaliumkonzentration bedeuten.

Für ein passiv diffundierendes Ion ist das Verhältnis

$$\text{influx/efflux} = \frac{(C_c)}{(C_e)} \exp \frac{(EzF)}{(RT)}$$

wobei E die elektrische Potentialdifferenz auf beiden Seiten der Zellmembran bedeutet. Da Chloridionen an roten Blutzellen im Gleichgewicht stehen, kann man auch schreiben:

$$[Cl_c] / [Cl_e] = \exp (EzF / R \cdot T),$$

und durch Umwandlung:

$$i_{M_K} = i_{a_K} + e_{k_K} [K]_c \cdot \left[[Cl_e] / [Cl_c] \right].$$

Nach Tosteson, 1955, lässt sich der Kaliuminflux (in mmol/l roten Blutzellen) auch durch folgende Gleichung zum Ausdruck bringen:

$$i_{M_K} = 1.9 + 0.017 [K]_e.$$

und der Kaliumefflux:

$$e_{M_K} = 0.014 [K]_c.$$

Diese Zahlenbeziehungen gelten für die roten Zellen bei pH 7,4 und unter ausreichender Glukosezufuhr. Unter solchen Bedingungen sind Influx und Efflux von Kalium annähernd gleich, solange die extrazellulären Kaliumkonzentrationen niedrig liegen. Bei längerer Exposition zu höheren Kaliumkonzentrationen erfolgt eine Nettoaufnahme von Kalium. Bei Glukosemangel nimmt der Kaliuminflux rasch ab (siehe Einleitung).

Der mittlere Glukoseverbrauch beträgt 2,33 mol/h/l Zellen. Dabei beträgt der Kaliuminflux $8,0 \cdot 10^{-14}$ mol/cm²/sec oder 1,67 mval/l/h oder 5,0 mval/l/3 Std. (Solomon, 1952). Die Halbwertszeit für den vollständigen zellulären Kaliumaustausch beträgt nach diesem Autor 35,5 Stunden.

In denselben Untersuchungen fand Solomon, (1952) einen Natriuminflux von $1,5 \cdot 10^{-13}$ mol/cm²/sec oder 3,08 mval/l/h oder 9,24 mval/l/3 Std.

Im Vergleich zu diesen Daten von Solomon, die unter steady state-Bedingungen gewonnen wurden, beträgt der Nettokaliuminflux in der Aufwärmperiode in den vorliegenden Untersuchungen mit + 10,17 mval/l/3 Std. (siehe Tabelle 1) das Doppelte des Wertes von Solomon, während der Nettonatriumefflux mit -10,02 mval/l/3 Std. (siehe Tabelle 1) dem Solomon'schen Wert nahekommt.

Wilbrandt (1963) fand einen Kaliumnettoflux in drei Stunden von + 7, 5 mÄqu/l und in derselben Zeit einen Nettoefflux von Natrium von - 4 mval/l. Die Unterschiede der einzelnen Autoren erklären sich durch die unterschiedlichen Milieubedingungen (gewaschene Erythrozyten, Glukosesubstitution, Zusatz von Adenosin). Einzelheiten siehe bei Blostein, Rubinstein und Denstedt (1961).

Am Ende der Inkubationsperiode betrug die zelluläre Kaliumkonzentration im Durchschnitt 71, 94 mval/l. Nach der Gleichung

$$e_{M_K} = 0,014 \left[K \right]_c$$

betrug dabei der Kaliumefflux $e_{M_K} = 1,008$ mval/l/h. Der in Tabelle 1 vermerkte Nettokaliuminflux von + 10, 17 mval/l/3 Std. beträgt pro Stunde 3, 39 mval/l. Unterstellt man, dass in derselben Zeit ein Kaliumefflux nach Gleichung

$$e_{M_K} = 0,014 \left[K \right]_c$$

bestanden hat ($e_{M_K} = 1,008$ mval/l/h), dann betrug der gesamte Kaliuminflux $i_{M_K} = 4, 398$ mval/l/h.

Setzt man diesen Wert von 4, 398 mval/l in die Gleichung

$$i_{M_K} = i_{aM_K} + e_{k_K} \left[K \right]_c \cdot \left[\left[Cl \right]_e / \left[Cl \right]_c \right]$$

ein, setzt ferner als $\left[\left[Cl \right]_e / \left[Cl \right]_c \right] = 1, 6$ ein und übernimmt von Tosteson, 1955, $e_{k_K} = 0,014$, dann lässt sich unter Berücksichtigung der zellulären Endkonzentration von Kalium von 71, 94 mval/l (siehe Tabelle 1) der aktive Transportflux von Kalium (i_{aM_K}) nach Gleichung

$$i_{M_K} = i_{aM_K} + e_{k_K} \left[K \right]_c \cdot \left[\left[Cl \right]_e / \left[Cl \right]_c \right]$$

berechnen. Der aktive Kaliumtransportflux betrug dann 2, 785 mval/l/h oder 82, 6 % des Nettokaliumflux der Aufwärmperiode oder 63, 5 % des gesamten Kaliuminflux der Aufwärmperiode.

Unter dem Einfluss einer erhöhten Wasserstoffionenkonzentration kommt es, wie unsere Versuche zeigen, zu einer Hemmung des Nettokaliumflusses in der Aufwärmperiode (Tabelle 1, Abbildung 1). Diese Befunde lassen sich entweder durch eine Verminderung des aktiven Kaliumtransportes durch die Zellmembran oder durch eine pH-abhängige Beeinflussung der passiven, also

energieunabhängigen Verteilungsmechanismen (Membranpermeabilität, Ionenabtausch) erklären.

Am nächsten liegt die Annahme eines Abtausches von Kalium- gegen Wasserstoffionen an der Zellmembran. Beides sind Ionen kleinen mittleren Molekulardurchmessers ($< 1,3 \text{ \AA}$) im Verhältnis zum mittleren Porenradius der Erythrozytenmembran, der im Bereich von $3,5$ bis $4,5 \text{ \AA}$ angenommen wird. (Solomon, 1952; Giebel und Passow, 1960).

Das Verhältnis von zellulärer Aufnahme von Wasserstoffionen zu zellulärem Kaliumverlust lässt sich annähernd berechnen, wenn man die zelluläre Pufferkapazität berücksichtigt. In dem auf Tabelle 2 geschilderten Versuch mit Milchsäure-Azidose betrug die mittlere Abnahme des Zell-pH gegenüber den Kontrollen 0,16.

Nach den von Bolte (1962) in unserem Labor ermittelten Sauretitrationskurven liegt die Pufferkapazität von Erythrozyten bei $95 \text{ mval H}^+/\text{pH-Einh. l Zellmasse}$. Bei einer Säuerung des Zellinneren um 0,16 Einheiten müssen also rund $15,2 \text{ mval H}$ in einen l Zellraum gelangt sein. Dieser Zahl steht ein mittlerer Zellkaliumverlust von $7,8 \text{ mval/l}$ gegenüber. Das Verhältnis $\text{H}_{\text{ein}}^+ / \text{K}_{\text{aus}}^+$ beträgt demnach 1,95, also rund 2,0. Dies bedeutet, dass fast doppelt soviel Wasserstoffionen eingewandert als Kaliumionen ausgewandert sind. Setzt man die Summe von Natrium + Kalium ($7,8 + 1,0 = 8,8$) ein, so ändert sich dieses Verhältnis nicht wesentlich ($\approx 1,7$).

Zum ähnlichen Resultat kam Riecker (1963), indem das Verhältnis eingewandelter Wasserstoffionen zu ausgewanderten Kaliumionen bei Fällen mit klinischer Azidose berechnet wurde. Die ermittelten Resultate stehen in guter Übereinstimmung mit den eingangs erwähnten Versuchen von Elkinton, Singer, Barger und Clark (1955), die bei gesunden Versuchspersonen unter experimenteller respiratorischer Azidose für den gesamten Intrazellulärraum ein Abtauschverhältnis $\text{H}_{\text{ein}}^+ / \text{K}_{\text{aus}}^+$ gleichfalls von 2,0 errechneten.

An nephrektomierten Hunden beobachteten Giebisch, Berger und Pitts (1955) eine fast proportionale Abhängigkeit des zellulären Kaliumverlustes von der Höhe des Kohlensäuredruckes in der Extrazellulärflüssigkeit. Natrium + Kalium betrug hier rund $+ 10 \text{ mval/l EZR}$ bei einer Senkung des Blut-pH auf 6,0. In Abweichung zu unseren Befunden an roten Blutzellen bestreitet in den Versuchen von Giebisch und Mitarbeiter das Natriumion den grösseren Anteil (37 %) gegenüber Kalium (14 %).

Diese Versuchsergebnisse weisen darauf hin, dass Schwankungen der extrazellulären Wasserstoffionenkonzentration einen starken Einfluss auf den

Kationenbestand der verschiedenen Körperzellen ausüben. Aus Untersuchungen von Dunker und Passow (1953) ist zu entnehmen, dass Säureanionen (z. B. Lactat, Sulfat, Phosphat) nur langsam die Membran roter Blutzellen penetrieren. Daher liegt die Annahme nahe, dass der zelluläre Kationenverlust wenigstens zu einem Teil über einen Abtausch gegen Wasserstoffionen zustandekommt.

ZUSAMMENFASSUNG

1. Untersucht wurde der Nettoflux von Kalium und Natrium in der Aufwärmperiode unterkühlter Erythrozyten in vitro.
2. Der Kaliumnettoflux betrug bei normalem pH 3,39 mval/l/h Blutzellen. Bei Milchsäure-Azidose, bei der ein Vollblut-pH von 7,14 erzeugt wurde, war der Kaliumnettoflux auf + 2,17 mval/l Blutzellen p. Std. vermindert. Die Erhöhung der Wasserstoffionenkonzentration verminderte also den Kaliumeinbau in die Zelle in der Aufwärmperiode nach Stoffwechselhemmung durch Unterkühlung auf rund 64 % des Wertes bei normalem pH.
3. Unter Berücksichtigung der zellulären Pufferkapazität beträgt das Verhältnis von in das Zellinnere eingewanderten H^+ -Ionen zu ausgewanderten Kaliumionen rund 2,0. Es wird diskutiert, ob diese Kaliumverschiebung durch einen Ionenabtausch an der Erythrozytenmembran oder durch Hemmung des aktiven Kaliumtransportes hervorgerufen wird.

ABBILDUNGSVERZEICHNIS

- Tabelle 1a: Veränderungen der Zellelektrolyte, des Zellwassergehaltes und des Vollblut-pH bei Milchsäure-Azidose in vitro (vor und nach Aufwärmung unterkühlter Erythrozyten in 37°).
- Tabelle 1b: Veränderungen der Zellelektrolyte, des Zellwassergehaltes und des Vollblut-pH bei Kohlensäure-Azidose in vitro (vor und nach Aufwärmung unterkühlter Erythrozyten in 37°).

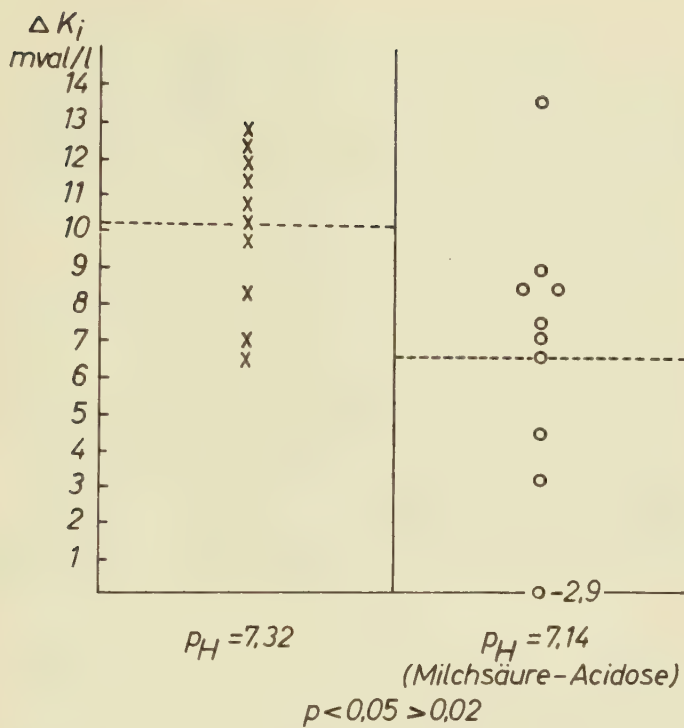


ABBILDUNG 1

Verminderung des Nettoflux von Kalium durch Milchsäure-Acidose (Aufwärmungsphase nach vorheriger Unterkühlung).

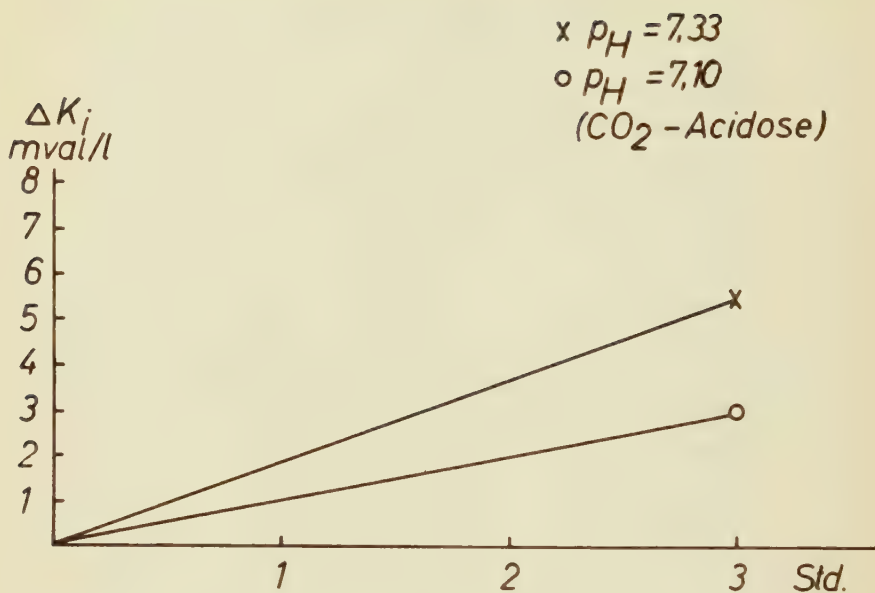


ABBILDUNG 2

Verminderung des Kaliumnettoflux in roten Blutzellen unter Kohlensäure-Azidose (Aufwärmungsphase bei 37° nach vorheriger Unterkühlung 4° Cels.).

MILCHSÄURE-ACIDOSE

a.

Nr.	Na _i mval/l			ΔNa _i mval/l		K _i mval/l			ΔK _i mval/l		Na/K	
	nach Unterk.	normales pH	Acidose	normales pH	Acidose	nach Unterk.	normales pH	Acidose	normales pH	Acidose	nach Unterk.	normales pH
1	38,3	34,0	30,5	- 4,3	- 7,8	72,9	79,9	70,0	7,0	- 2,9	0,525	0,426
2	39,5	28,5	28,6	-11,0	-10,0	60,7	73,4	67,2	12,7	6,5	0,651	0,388
3	30,0	24,5	24,7	- 5,5	- 5,3	75,99	84,2	79,0	8,3	3,1	0,395	0,291
4	35,7	26,1	26,7	- 9,6	- 9,0	60,5	71,0	68,0	10,5	7,5	0,590	0,367
5	38,0	25,8	27,5	-12,2	-10,5	56,5	63,1	64,9	6,6	8,4	0,673	0,409
6	38,7	32,6	32,2	- 6,1	- 6,5	59,2	69,5	67,7	10,3	8,5	0,654	0,469
7	42,3	28,7	29,6	-13,6	-12,7	55,6	65,4	62,6	9,8	7,0	0,761	0,439
8	40,2	34,5	31,0	- 5,7	- 9,2	62,5	74,3	66,9	11,8	4,4	0,643	0,464
9	37,6	23,8	23,5	-13,8	-14,1	60,4	72,9	74,0	12,5	13,6	0,623	0,326
10	44,5	30,6	30,6	-13,9	-13,9	53,5	65,7	62,5	12,2	9,0	0,832	0,466
MW	38,48	28,91	28,49	- 9,57	- 9,99	61,77	71,94	68,28	10,17	6,51	0,6347	0,4045

KOHLENSÄURE-ACIDOSE

b.

1	24,6	18,5	21,1	- 6,1	- 3,5	68,1	74,8	75,7	+ 6,7	+7,6	0,361	0,247
2	26,1	21,1	24,1	- 5,0	- 2,0	73,2	77,0	77,5	+ 3,8	+4,3	0,357	0,274
3	37,0	28,6	27,2	- 8,4	- 9,8	67,9	78,0	72,7	+10,1	+4,8	0,545	0,367
4	45,0	41,7	41,6	- 3,3	- 3,4	68,5	70,6	68,7	+ 2,1	+0,2	0,657	0,591
5	53,4	47,5	47,7	- 5,9	- 5,7	62,1	65,0	61,0	+ 2,9	-1,1	0,860	0,731
6	30,7	21,2	22,5	- 9,5	- 8,2	68,3	74,8	70,2	+ 6,5	+1,9	0,449	0,283
MW	36,13	29,77	30,70	- 6,37	- 5,43	68,02	73,37	70,97	+ 5,35	+2,95	0,5382	0,4155

dose	$\Delta Na/\Delta K$			pH Vollblut		ΔpH	H_2O Gew. %			ΔH_2O Gew. %	
	nach Unterk.	normales pH	Acidose	normales pH	Acidose	Vollblut	nach Unterk.	normales pH	Acidose	normales pH	Acidose
36	1	0.894	0.950	7.33	7.11	-0.22	68.66	65.77	67.93	-2.89	-0.73
26	1	0.790	0.837	7.32	7.14	-0.18	67.18	62.38	64.42	-4.8	-2.76
13	1	0.873	0.919	7.31	7.11	-0.20	66.32	64.83	66.14	-1.49	-0.18
93	1	0.773	0.847	7.29	7.15	-0.14	67.29	64.64	65.61	-2.65	-1.68
24	1	0.824	0.826	7.36	7.12	-0.24	68.39	65.00	66.69	-3.39	-1.70
76	1	0.851	0.862	7.34	7.16	-0.18	66.82	64.37	65.53	-2.45	-1.29
73	1	0.787	0.816	7.30	7.13	-0.17	68.42	66.12	66.20	-2.30	-2.22
63	1	0.843	0.870	7.38	7.16	-0.22	69.18	65.56	67.89	-3.62	-1.29
18	1	0.766	0.756	7.21	7.11	-0.10	69.48	66.54	66.75	-2.94	-2.73
90	1	0.767	0.790	7.35	7.16	-0.19	68.90	65.90	67.42	-3.00	-1.48
212	1	0.8168	0.8473	7.319	7.135	-0.184	68.064	65.111	66.458	-2.953	-1.606

				pH Vollblut		ΔpH	ph Ery.		ΔpH Ery.	pH Serum		ΔpH Serum
				normales pH	Acidose	Vollblut	normal. pH	Acidose		normales pH	Acidose	
79	1	0.880	0.897	7.35	7.18	-0.17	7.23	7.17	-0.06	7.29	7.19	-0.10
11	1	0.915	0.940	7.30	7.10	-0.20	7.13	7.02	-0.11	7.21	7.12	-0.09
74	1	0.832	0.861	7.36	7.15	-0.21	7.24	7.13	-0.11	7.32	7.20	-0.12
06	1	0.947	0.964	7.33	7.03	-0.30	7.24	7.04	-0.20	7.26	7.08	-0.18
82	1	0.914	0.953	7.32	7.08	-0.24	-	7.03	-	7.30	7.09	-0.21
21	1	0.850	0.901	7.29	7.05	-0.24	7.20	7.12	-0.08	7.22	7.07	-0.15
455	1	0.8897	0.9193	7.325	7.098	-0.226	7.208	7.096	-0.112	7.267	7.125	-0.142

LITERATURVERZEICHNIS

- 1.) Bubnoff, M. v. und G. Riecker:
Elektrolytbfunde in Erythrocyten bei Alkalose und Hypokaliämie.
Verhdlg. dt. Ges. inn. Med. 68, 681 (1962).
- 2.) Riecker, G. :
Einteilungen der Störungen des Wasser- und Elektrolytstoffwechsels.
Internist 2, 601 (1961).
- 3.) Elkinton, J. R. und T. S. Danowski:
The Body Fluids,
The Williams and Wilkins Comp. Baltimore 1955.
- 4.) Bolte, H. D. , G. Riecker und D. Röhl:
Messungen des Membranpotentials an einzelnen quergestreiften Muskelzellen des Menschen in Situ.
I. Normalwerte.
Klin. W' schr. 41, S. 356, 1963.
- 5.) Elkinton, J. R. , R. B. Singer, E. S. Barger und J. K. Clark:
Effects in man of acute experimental respiratory alkalosis and acidosis on ionic transfers in the total body fluids.
J. clin. Invest. 34, 1671, (1955).
- 6.) Giebisch, G. L. Berger und R. F. Pitts:
The extrarenal response to acute acid-based disturbances of respiratory origin.
J. clin. Invest. 33, 231 (1954).
- 7.) Schwartz, W. B. , K. J. Orning und R. Porter:
The interal distribution of hydrogen ions with varying degrees of metabolic acidosis.
J. clin. Invest. 36, 373 (1957).
- 8.) Levitt, M. F. , L. B. Turner, A. Y. Sweet and D. Pandiri:
The response of bone, connective tissue and muscle to acidosis.
J. clin. Invest. 35, 98 (1956).

- 9.) Mudge, G. H. and K. Vislocky :
Elektrolyte Changes in human striated muscle in
acidosis and alkalosis.
J. clin. Invest. 28, 482 (1949).
- 10.) Gessler, H. :
Intra- und extracelluläre Electrolytveränderungen bei
metabol. Acidose. Untersuchungen an Erythrocyten.
Klin. W'schr. 39, 232 (1961).
- 11.) Nichols, G. und N. Nichols :
Electrolyte equilibria in erythrocytes during diabetic
acidosis.
J. clin. Invest. 32, 113 (1953).
- 12.) Gessler, U. :
Intra- und extracelluläre Electrolytveränderungen
bei metabol. Acidose. Untersuchungen an Erythro-
cyten.
Klin. W'schr. 39, 232 (1961).
- 13.) Riecker, G. :
Kationenverteilung an Erythrocyten bei Azidose.
Klin. W'schr. 41, 184 (1963).
- 14.) Streeten, D. H. P. und A. K. Solomon :
The effect of ACTH and adrenal steroids on K trans-
port in human erythrocytes.
J. Gen. Physiol. 37, 643 (1954).
- 15.) Glynn, J. M. :
The action of cardiac glycosides on sodium and
potassium movements in human red cells.
J. Physiol. 1957, 148.
- 16.) Straub, F. B. :
Über die Akkumulation der Kaliumionen durch
menschl. Blutkörperchen.
Acta physiol. Acad. Sci. hung. 4, 235 (1953).
- 17.) Wilbrandt, W. :
A relation between the permeability of the red cell
and its metabolism.
Trans. Faraday Soc. 33, 956 (1937).
- 18.) Schatzmann, H. J. :
Herzglykoside als Hemmstoffe für den aktiven Ka-
lium- und Natriumtransport.

- 19.) Schatzmann, H. J. :
Die Wirkung von Desoxykortikosteron auf den aktiven
Kationenaustausch an Rattenblutzellen.
Experientia (Basel) 10, 189 (1954).
- 20.) Whittam, R. in: Glynn, J. M. :
The ionic permeability of the red cell membrane.
Progress in Biophysics 8, 241 (1957).
- 21.) Wilbrandt, W. : Aktiver Transport durch Grenzflächen.
Klin. W'schr. 41, 138 (1963).
- 22.) Bubnoff, M.v. und G.Riecker:
Über die intrazelluläre Wasserstoffionenkonzentra-
tion und das intra-extrazelluläre Reaktionsgefälle.
Untersuchungen an Erythrocyten.
Klin. W'schr. 39, 23 (1961).
- 23.) Tosteson, D. : Sodium and potassium transport in red blood cells.
In: A. M. Shanes; Electrolytes in biological systems.
Americ. Physiol. Soc. Washington (D.C.) 1955.
- 24.) Solomon, A. K. : The permeability of the human erythrocyte to
sodium and potassium.
J. Gen. Physiol. 36, 57 (1952).
- 25.) Blostein, R., D. Rubinstein and O.F. Denstedt:
The Relation between phosphate metabolism and
the transport of cations across the cell membrane
in the human erythrocyte.
Can. J. Biochem. Physiol. 39, 1879 (1961).
- 26.) Giebel, O. und H. Passow :
Die Permeabilität der Erythrocytenmembran für
organ. Anionen. Zur Frage der Diffusion durch
Poren.
Pflügers Arch. 271, 378 (1960).
- 27.) Bolte, H.D. : Änderungen des mittleren Zell-pH durch Säure-
titration.
Untersuchungen an menschl. Erythrocyten.
Inaug. Diss. München 1962.

28.) Dunker, E. und H. Passow :

Zwei Arten des Anionenaustausches bei roten Blutkörperchen verschiedener Säugetiere.
Pflügers Arch. 256, 446 (1953).

Herrn Privatdozent Dr. G. RIECKER danke ich sehr für die
Überlassung des Themas und für seine Unterstützung.

Herrn Prof. Dr. H. SCHWIEGK danke ich für die Übernahme des Coreferates.

LEBENS LAUF

Am 24.11.1936 wurde ich als Sohn des Dentisten Paul Hidding und seiner Ehefrau Gerda geb. Schneider in Schwelm geboren. Von 1943 bis 1947 besuchte ich die Volksschule in Schwelm, um dann auf das mathematisch-naturwissenschaftliche Gymnasium zu wechseln. Dort bestand ich 1956 das Abitur. Das Studium der Zahnmedizin begann ich in Marburg, wo ich ein Semester blieb. In Würzburg bestand ich 1958 das Physikum. Nach zwei klinischen Semestern wechselte ich nach Düsseldorf. 1961 beendete ich mein Studium mit dem Staatsexamen. Anschließend war ich als Assistent in mehreren Privatpraxen tätig. Im Frühjahr 1962 arbeitete ich drei Monate in der Medizinischen Klinik in München. Seitdem bin ich als Assistent in St. Gallen beschäftigt.

